

JAMILAH LUCENA SANTOS ALENCAR

**INVESTIGAÇÃO SOROLÓGICA DE *Leishmania* spp. EM *Cerdocyon thous* E
Leopardus pardalis NO PANTANAL SUL MATO-GROSSENSE, BRASIL**

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

João Pessoa

2020

JAMILAH LUCENA SANTOS ALENCAR

**INVESTIGAÇÃO SOROLÓGICA DE *Leishmania* spp. EM *Cerdocyon thous* E
Leopardus pardalis NO PANTANAL SUL MATO-GROSSENSE, BRASIL**

Monografia apresentada ao Curso de Ciências
Biológicas (Trabalho Acadêmico de Conclusão
de Curso), como requisito parcial à obtenção do
grau de Bacharel em Ciências Biológicas pela
Universidade Federal da Paraíba.

Orientadora: Dra. Fabiana Lopes Rocha

Co-orientadora: Msc. Laíza de Queiroz V. Braga

João Pessoa

2020

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

A368i Alencar, Jamilah Lucena Santos.

Investigação sorológica de *Leishmania* spp. em *Cerdocyon*
thous e *Leopardus pardalis* no pantanal sul
mato-grossense, Brasil / Jamilah Lucena Santos Alencar.
- João Pessoa, 2020.
41f. : il.

Orientação: Fabiana Lopes Rocha.

Coorientação: Laíza de Queiroz Viana Braga.
Monografia (Graduação) - UFPB/CCEN.

1. Reservatórios silvestres. 2. Jaguatirica. I. Rocha,
Fabiana Lopes. II. Braga, Laíza de Queiroz Viana. III.
Título.

UFPB/CCEN

JAMILAH LUCENA SANTOS ALENCAR

**INVESTIGAÇÃO SOROLÓGICA DE *Leishmania* spp. EM *Cerdocyon thous* E
Leopardus pardalis NO PANTANAL SUL MATO-GROSSENSE, BRASIL**

Monografia apresentada ao Curso de Ciências
Biológicas, como requisito parcial à obtenção do
grau de Bacharel em Ciências Biológicas da
Universidade Federal da Paraíba.

Data: 13/Abril/2020

Resultado: Aprovada

BANCA EXAMINADORA:



Fabiana Lopes Rocha, Doutora, Universidade Federal da Paraíba



Márcia Rosa de Oliveira, Doutora, Universidade Federal da Paraíba



Emmanuel Messias Vilar Gonçalves da Silva, Mestre, Universidade Federal da Paraíba

Para todas as mulheres que lutaram antes de mim, durante a minha luta e junto comigo pelo nosso espaço no mundo como mulheres e cientistas.

AGRADECIMENTOS

Passei muito tempo esperando um momento mágico em que me sentisse capaz de expressar a montanha-russa de sentimentos que essa graduação me proporcionou e o quanto sou grata a cada ser vivo que teve influência na minha caminhada até que percebi que fui ingênua demais ao pensar que esse momento chegaria. Não dá para traduzir tanto sentimento, mas tentar faz parte do processo.

Nada disso seria possível sem a minha mãe, **Lilia Lucena**, que dedicou sua vida a proporcionar para as filhas as oportunidades que nunca teve. Mainha, a senhora fez o possível e o impossível para que suas três filhas tivessem acesso à educação de qualidade e isso mudou nossas vidas. Eu nunca vou conseguir agradecer o suficiente por tanto cuidado, dedicação, esforço e suor. Essa conquista é mais sua que minha.

Não poderia deixar de agradecer às minhas irmãs, **Janaína Lucena** e **Janine Lucena**, por participarem de cada pedacinho dessa jornada, desde a troca de fraldas. Quando eu nasci, vocês já estavam na universidade, mas nada, nem as diferenças de idade e de visão de mundo (e as não poucas brigas), as impediu de me darem todo suporte possível para chegar onde cheguei. Muito obrigada por tanto.

Eu não seria quem sou sem os animais que forjaram essa paixão que me trouxe para as Ciências Biológicas. Cresci entre periquitos, peixes, porquinho da índia, pintinho cor-de-rosa, jabuti, cachorros e gatos; e carrego vocês sempre comigo: **Batman**, **Romeu**, **Julieta**, **Amarelinho**, **Piaget**, **Vygotsky**, **Ícaro**, **Duquesa Victoria**, **Chicken Little**, **Pucca**, **Sofia**, **Melissa**, **Xande** e **Apolo**. Além dos agregados Frajola e Churros e tantos animais de rua que mudaram como enxergo o mundo e me ensinaram tanto. Mas **Ayla** e **Merida**... Vocês são minhas filhas, parece até que são parte de mim, e me deram muita força nesse processo. Sou grata demais ter convivido (e conviver) com vocês.

Agradeço à Universidade Federal da Paraíba pelas diversas oportunidades de aprender e crescer em experiências de ensino, pesquisa e extensão e o CNPq pelas bolsas de pesquisa.

Eu não poderia deixar de agradecer a melhor e mais promissora turma que a Biologia da UFPB já viu. É um mistério para a ciência como na aleatoriedade da vida (e dos processos seletivos) pessoas tão diferentes conseguiram formar um vínculo tão especial e conviver tão bem. Obrigada por todos os lanches compartilhados, pelos cafunés forçados, pelos longos momentos de reclamação e sofrimento que eu nunca precisei passar sozinha, pelo conforto

durante as apresentações de seminário, pelos trabalhos individuais que sempre foram feitos em grupo, pelas centenas de documentos compartilhados no Google Drive e revisões poucos minutos antes da prova. Vocês são incríveis e essa graduação não teria sido metade do que foi sem vocês: **Adriennius Carneiro, Ana Clara Martins, Anna Beattriz Marques, Brenda Luany, Catarina Serrão, Daniel Cesarino, Lidiane Nascimento, Mateus Estrela, Natália das Neves, Nathália Martins, Rafael Vitor, Ruãn Pontes e Rubens Almeida.**

Eu desisti de tentar explicar a confusão dos meus sentimentos desde que percebi que não sei como agradecer a vocês. **Catarina Serrão, Brenda Luany e Nathália Martins,** vocês foram muito mais que um porto seguro durante esses últimos anos, mas as amigas que superaram qualquer imaginação que eu pudesse ter tido sobre vínculos formados na faculdade. Vocês me deram companhia, conforto, diversão e estabilidade nessa graduação que foi um dos momentos mais conturbados que já vivi. Nunca vou conseguir agradecer o suficiente, mas deixo registrado aqui que pelo menos tentei.

Lidiane Nascimento, você foi minha companheira nessa reta final e eu não poderia ter tido uma parceira melhor. Seu abraço e seu cafuné me deram segurança nessa bagunça toda e dividir a experiência caótica do fim da graduação com você deixou tudo mais leve (e impediu vários surtos). Obrigada por tanto incentivo, por sempre acreditar em mim e nunca medir esforços para ajudar.

Entreí no Laboratório de Mamíferos na primeira semana de aula e, mesmo tentando escapar (eu admito), essa foi minha casa durante toda a graduação. Como diz **Patrício Rocha:** “poucos podem viver o paradoxo de se sentir em casa no trabalho” e sou grata por ter experimentado isso. Fiz amizades inesperadas e grandiosas, aprendi mais do que jamais poderia colocar em palavras, não só sobre mastozoologia, mas sobre a vida, e vivi experiências extremamente intensas. Obrigada por tudo, MAME! Me conforta saber que uma vez parte desse laboratório, não tem como fugir. **Pedro Estrela,** eu não sou capaz de imaginar que rumos eu teria tomado se você não tivesse dado uma chance a aspirante à estagiária que parecia muito mais um pintinho assustado que gente na sua porta. Obrigada por tanto aprendizado, risadas, oportunidades e apoio.

Fabiana Rocha, você me deu o maior presente dessa graduação: a oportunidade de me apaixonar completamente por uma área da ciência e de ter a certeza das minhas escolhas acadêmicas e seus (prováveis) direcionamentos futuros. Não tenho dúvidas de que minha história na universidade (que acabou de começar) se divide em antes e depois de você. Por

essas e outras, me sinto muito grata pela sua disposição, mesmo em meio a longas viagens e demandas pessoais, de me receber de braços abertos e me ensinar tanto.

Hannah Nunes, obrigada por ter sido minha primeira orientadora! Por ter me acolhido com tanto carinho assim que cheguei no laboratório, por ter me ensinado sobre biologia e sobre a vida, por ter cuidado de mim como se fosse sua filha na mastozoologia e por ter se esforçado sempre para estar presente independente da distância. Eu não tenho palavras para descrever minha gratidão, admiração e afeto por você.

Sou tão grata pela dupla que me adotou e me fez sentir tão acolhida nesse grupinho de jaguatiricas, cachorros-do-mato e Pantanal. Nada disso teria sido possível sem **Laíza Braga**, que desde o primeiro momento esteve tão disposta a fazer tudo o que tivesse ao seu alcance para me dar suporte e dividir comigo uma parte importante de sua vida acadêmica. Além de toda a parceria e orientação, indescritível em algumas poucas linhas, o suporte emocional que você me deu, mesmo à distância, ouvindo longos áudios de desabafos e choros, me manteve segura até aqui. **Andressa Fraga**, como agradecer por tanto apoio e cuidado? Construímos um vínculo, em tão pouco tempo, que me deu forças para não desistir. Obrigada pela companhia, pelos conselhos, pelos desabafos, por sempre acreditar em mim e por fazer questão de se fazer presente.

Preciso deixar registrado o quanto você me inspira desde nossos primeiros contatos, **Emmanuel Messias**. Você é o modelo de cientista que quero seguir, um homem tão admirável que eu poderia passar horas descrevendo as inúmeras qualidades que te fazem tão amável e excepcional. Obrigada por estar presente (e por fazer questão disso), pela sua disposição a ajudar, por sempre saber o que dizer e por se importar tanto. Quando crescer quero ser igual a você.

Toda minha gratidão às amigas que tornaram essa jornada tão marcante e me deram abrigo. Vocês são uma parte de mim e compartilhar a existência com vocês faz as dificuldades valerem a pena. **Ana Clara Diniz, Adriana Assis, Iluska Correia, Isabela Castedo, Letticia Marinho, Maria Gabrielle Chaves, Maria Luisa Queiroz, Mariana Fernandes, Natália das Neves e Raissa Helena**.

Carolina Gomes, obrigada por permanecer. Ninguém me conhece como você, a minha pessoa, que faz esse fim de jornada parecer pequeno perto de tudo que já vivemos juntas. Obrigada por conseguir se fazer presente em meio ao nosso caos e por ser um porto seguro, uma certeza de que em algum lugar há estabilidade, compreensão e amor. Você

significa para mim que eu não estou completamente perdida, porque você ainda está aqui, e nesse mundo onde estou perdida sempre, eu não poderia querer mais nada.

Agradeço demais à **Victoria Rachel** pela prova de amor de aguentar todos os surtos, ouvir todos os áudios gigantes e ler todos os textões. Mas, principalmente, por se esforçar para se fazer presente, apesar dos pesares, e por tanta cumplicidade. Você me deu um suporte inimaginável, amiga, e eu sou muito grata por essa graduação ter me trazido você de brinde falando sobre Friends no elevador do HU.

Como você mesma diz: “mesmo que a gente não perceba, sempre vamos ter uma a outra” e eu me sinto segura em sentir a verdade disso. Compartilhar essa jornada com você foi uma dádiva, **Nathália Karla**. Obrigada por me ouvir mesmo sabendo que ia passar raiva, por me apoiar, acreditar em mim e estar sempre disposta a oferecer conforto. Sou muito grata por crescer e amadurecer com você por perto.

Aos professores que fizeram parte dessa jornada meu muitíssimo obrigada! **Luís Fernando**, por ter me “adotado” e ajudado tanto não só como professor, mas também como amigo. Foi uma honra ser monitora de Biologia Celular e Molecular orientada por você. **Gustavo Vieira**, obrigada pela sensibilidade e disposição em ajudar em momentos tão difíceis, você não tem ideia do quanto conversar com você me ajudou a não desistir. **Carolina Lacerda**, você é um exemplo para mim, obrigada por tanto carinho e cuidado. **Felipe Guerra e Eduardo Sérgio**, participar de projetos de extensão com vocês me ensinou tanto quanto qualquer sala de aula, muito obrigada pela confiança e oportunidades. **Márcio Bernardino**, você me ensinou demais sobre a vida e as lutas que precisamos encarar, obrigada por ter acreditado em mim e ter feito o possível (e impossível) para que minha voz fosse ouvida. **Robson Ramos, Luiz Lopez e Valéria Cunha**, vocês são o retrato da profissional que quero ser, obrigada por tanta inspiração.

E, por fim, mas não menos importante, agradeço a mim mesma. Por não ter desistido e ter vivido com todo meu coração essa graduação inteira.

*"Sometimes science is more art than science,
Morty. Lot of people don't get that."*

*Rick Sanchez, Rick and Morty
(Temporada 1, Episódio 6)*

RESUMO

As leishmanioses são um grupo de zoonoses que acometem mamíferos domésticos, silvestres e humanos de grande importância para a saúde pública por serem emergentes e reemergentes em 98 países. Por serem negligenciadas, ainda há lacunas no conhecimento de sua epidemiologia, especialmente acerca de seu ciclo de transmissão silvestres. Dentre os mamíferos, destaca-se a participação dos carnívoros por suas características ecológicas, havendo relatos de diversas espécies dessa ordem que atuam como hospedeiros e/ou potenciais reservatórios de *Leishmania* spp. Contudo, poucos estudos relatam a infecção por *Leishmania* spp. em felinos silvestres, como jaguatiricas (*Leopardus pardalis*), havendo até o momento apenas descrição de um indivíduo positivo dessa espécie em vida livre. No presente estudo, avaliamos a soroprevalência de anticorpos anti-*Leishmania* spp. através da Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) em jaguatiricas e cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*) de vida livre no Mato Grosso do Sul, Brasil. Adicionalmente, avaliamos a presença de anticorpos anti-*Trypanosoma cruzi* e anti-*Trypanosoma evansi* para excluir possíveis reações cruzadas com outros tripanosomatídeos endêmicos da área. Encontramos uma soroprevalência de 69,2% (n=13) nas jaguatiricas, enquanto nenhum dos cachorros-do-mato testou positivo (n=12). Apesar de compartilharem a mesma área, a negatividade das amostras de cachorros-do-mato traz indícios de que espécies de carnívoros podem ter diferentes probabilidades de exposição aos ciclos de transmissão locais de acordo com suas características ecológicas, bem como da influência dos fatores bióticos e abióticos. Comparado com a literatura sobre infecção por *Leishmania* spp. em felinos, até onde sabemos, essa é a maior soroprevalência já descrita tanto em gatos silvestres quanto em domésticos. Ainda há muito a ser debatido sobre o papel dos felinos na epidemiologia das leishmanioses; contudo, mais que um achado pontual, nossos resultados indicam que jaguatiricas podem participar dos ciclos de transmissão de *Leishmania* spp. e abrem espaço para discussão da atuação dessa espécie, que tem a maior distribuição e maiores densidades entre os felinos neotropicais, como hospedeiros e potenciais reservatórios silvestres do parasito na natureza.

Palavras-chave: jaguatirica, cachorro-do-mato, reservatórios silvestres.

ABSTRACT

Leishmaniasis are a group of zoonoses that affect domestic, wild and human mammals that are considered to be of great importance for public health as they are emerging and reemerging in 98 countries. As neglected diseases, there are still gaps in the knowledge of their epidemiology, especially regarding the wild transmission cycles. Among mammals, carnivorans stands out due to their ecological traits, with reports of several species of this order acting as *Leishmania* spp hosts and/or potential reservoirs. Still, few studies report *Leishmania* spp. infection in wild cats, such as the ocelots (*Leopardus pardalis*); up now, there is only one description of a positive individual of this species in the wild. In the present study, we evaluated the seroprevalence of anti-*Leishmania* spp. Antibodies using Indirect Fluorescent Antibody Test (IFAT) in free-living ocelots and crab-eating foxes (*Cerdocyon thous*) in Mato Grosso do Sul, Brazil. Additionally, we evaluated the presence of anti-*Trypanosoma cruzi* and anti-*Trypanosoma evansi* antibodies to rule out possible cross reactions with other endemic trypanosomatids in the area. We found a 69.2% seroprevalence (n = 13) in ocelots, while none of the crab-eating foxes tested positive (n = 12). Despite sharing the same area, the negativity of the wild canids' samples might indicate that carnivoran species could have different probabilities of being exposed to the local transmission cycles according to their ecological traits, as well as the influence of biotic and abiotic factors. Compared with the literature on *Leishmania* spp. in felines, to the best of our knowledge, this is the highest seroprevalence ever described for both wild and domestic felids. There is still much to debate about the role of felines in the epidemiology of leishmaniasis; yet, more than a punctual finding, our results indicate that ocelots may participate in the *Leishmania* spp. transmission cycles and open space for discussion about the roles as hosts and potential reservoirs of the parasite in the wild of this species that has the highest distribution and highest densities among neotropical felids.

Keywords: ocelot, crab-eating fox, wild reservoirs.

SUMÁRIO

1. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	13
2. REFERÊNCIAS.....	18
3. INVESTIGAÇÃO SOROLÓGICA DE <i>Leishmania</i> spp. EM <i>Cerdocyon thous</i> E <i>Leopardus pardalis</i> NO PANTANAL SUL MATO-GROSSENSE, BRASIL (MANUSCRITO).....	22
3.1. INTRODUÇÃO.....	22
3.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	24
3.3. RESULTADOS.....	28
3.4. DISCUSSÃO.....	30
3.5. REFERÊNCIAS.....	35
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	40

1. Fundamentação Teórica

As leishmanioses são parasitoses de caráter zoonótico endêmicas em 98 países e territórios (OPAS, 2019) transmitidas por vetor e causadas por mais de 20 espécies de protozoários parasitos de células brancas do gênero *Leishmania*. As patologias se apresentam de três formas: cutânea, mucocutânea e visceral, e sua transmissão entre hospedeiros mamíferos ocorre através da picada de fêmeas de flebotomíneos infectadas pertencentes aos gêneros *Lutzomyia*, nas Américas, e *Phlebotomus*, na Ásia, Europa e África (BURZA, 2018; WHO, 2010). Mundialmente, estima-se que, por ano, a leishmaniose cutânea afete mais de 1,2 milhão de pessoas e cerca de 400 mil sejam acometidas pela forma visceral da doença, destas 40 mil chegam a óbito (ALVAR, 2012). Nesse contexto, a Organização Mundial da Saúde (2013) considera as leishmanioses como uma das 18 doenças tropicais negligenciadas e estudos a classificam como a terceira doença mais importante transmitida por vetor a afetar humanos, precedida apenas pela malária e pela filariose linfática (SOLANO-GALLEGU, 2009).

Cerca de 90% dos casos mundiais de leishmaniose visceral ocorrem em cinco países: Bangladesh, Brasil, Índia, Sudão e Sudão do Sul (ALVAR, 2012; PAHO). Segundo o Ministério da Saúde (Brasil, 2019), em Boletim Epidemiológico, no Brasil ocorrem anualmente cerca de 3.500 casos de leishmaniose visceral com incidência de duas ocorrências a cada 100.000 habitantes. Nos últimos anos, a letalidade da doença no País, que se não tratada pode levar até 90% dos infectados a óbito, aumentou, passando de 3,1% em 2000 para 7,1% em 2018.

Segundo a Organização Pan-Americana da Saúde, 75% dos casos de leishmaniose cutânea se concentram em 10 países. Dentre estes, quatro se localizam nas Américas, onde as apresentações da doença são consideradas emergentes e reemergentes (ASHFORD, 2000): Brasil, Colômbia, Nicarágua e Peru (PAHO). O Brasil reporta mais de 96% dos casos de leishmaniose cutânea da América do Sul e, em 2016, de acordo com a Organização Mundial da Saúde, cerca de 97 milhões de pessoas estavam sob risco de contrair a doença no País. Em 2018, 46.041 casos de leishmaniose cutânea e muco-cutânea foram notificados nas Américas e desses 35,7% (16.432 casos) eram de origem brasileira (OPAS, 2019). Neste contexto, Asfaram (2019) considera o Brasil como um dos países com maior prevalência e distribuição geográfica das leishmanioses no mundo.

De acordo com a Secretaria de Saúde do Mato Grosso do Sul (2018), entre 2010 e 2017, foram notificados 1.605 casos de leishmaniose visceral no estado com 59,8% dos registros (960 casos) ocorrendo na capital Campo Grande, onde a parasitose é considerada endêmica (BRAZUNA, 2012). A incidência de casos no Mato Grosso do Sul a cada 100.000 habitantes passou de 1,47 em 2001 para 20,98 em 2006. Neste mesmo período, o estado teve o quinto maior registro de casos da doença no País, com 1.189 casos notificados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação do Ministério da Saúde (SINAN/MS). Dentre estes, 49% ocorreram em Campo Grande (577 casos) (BOTELHO e NATAL, 2009). Além disso, entre janeiro de 2002 e dezembro de 2009, 7,4% dos pacientes diagnosticados com leishmaniose visceral no Mato Grosso do Sul chegaram a óbito (BRAZUNA, 2012). Embora haja poucos estudos acerca da leishmaniose cutânea no Mato Grosso do Sul, esta é considerada endêmica no estado (YARZON, 2003) onde houve 406 casos da doença registrados no SINAN/MS entre 2012 e 2018.

O ciclo das leishmanioses é heteroxeno e multi-hospedeiro, podendo ser dividido em duas fases: a que ocorre no vetor e a que ocorre no hospedeiro mamífero. O flebótomo vetor se infecta através do repasto sanguíneo, ao se alimentar de um hospedeiro doente, onde ingere células infectadas pelo parasito na forma amastigota. No seu trato digestivo, ocorre a transformação dos protozoários da forma amastigota para a promastigota, estes irão se multiplicar e migrar para a probóscide do animal. Desta forma, nas próximas alimentações do mosquito há a regurgitação das promastigotas na pele do mamífero, que será infectado. No hospedeiro mamífero, as promastigotas são fagocitadas pelos macrófagos e, no interior destas células, transformam-se em amastigotas, que se multiplicam dentro das células de diversos tecidos do hospedeiro (PENNISI, 2013; REY, 2008). Nas Américas, as espécies que mais participam deste ciclo são *Leishmania infantum*, *Leishmania braziliensis*, *Leishmania amazonensis* e *Leishmania mexicana* (ALVAR, 2012).

Segundo Ashford (2000), a aptidão do hospedeiro mamífero para a manutenção das populações de *Leishmania* spp. na natureza depende de diversos fatores, a exemplo da densidade populacional, longevidade e resposta imune da espécie hospedeira. A duração da infecção e o local do parasito dentro corpo do hospedeiro também devem ser considerados para determinar o papel do animal no ciclo da doença. Neste contexto, a importância da espécie hospedeira para manutenção e dispersão de um parasito multi-hospedeiro, como *Leishmania* spp., no ecossistema depende, principalmente, da habilidade do parasito de

persistir no hospedeiro e de ser transmitido para o vetor (ROCHA, 2012). Os hospedeiros mamíferos do agente etiológico das leishmanioses nas Américas, de acordo com uma revisão sistemática feita por Roque e Jansen (2014), pertencem a sete ordens: Carnivora, Chiroptera, Cingulata, Didelphimorphia, Pilosa, Primata e Rodentia.

Cleveland (2006) sugere que os carnívoros, em geral, possuem potencial para agir como importantes hospedeiros sentinelas para doenças emergentes em humanos e gado, como também podem atuar como bioacumuladores de patógenos. Rocha (2013) comprovou este papel para *Trypanosoma cruzi*, outro tripanosomatídeo, em um estudo com diversos carnívoros silvestres de vida livre realizado nos biomas brasileiros Pantanal e Cerrado. Ademais, estes animais, que já são conhecidos por possuírem um importante papel na regulação dos ecossistemas, estabilizando populações de presas e auxiliando na manutenção da diversidade ecológica da área (SOULÉ e TERBORGH, 1999), também podem atuar na dispersão de parasitos, através de suas características ecológicas como grande área de vida e biomassa (ROCHA, 2013). Além disso, o estudo das dinâmicas das infecções nestes animais podem gerar ferramentas para vigilância e compreensão de seus padrões temporais (CLEVELAND, 2006).

A ordem Carnivora se destaca por sua grande diversidade de espécies e ecológica. Carnívoros ocupam a maioria dos habitats, nichos ecológicos e estratos de vegetação, além de apresentarem hábitos alimentares diversos que variam entre frugívoros, insetívoros e hipercarnívoros (ROCHA, 2013). Das 287 espécies de carnívoros que ocorrem no mundo, há registros de 28 no Brasil, sendo destas 26 terrestres e duas aquáticas, pertencentes a seis famílias: Canidae, Felidae, Mephitidae, Mustelidae, Otariidae e Procyonidae (CHEIDA, 2011).

A principal fonte de infecção humana por *Leishmania* spp. nos ambientes domésticos e peridomésticos são os cães (*Canis lupus familiaris*) (BRASIL, 2014). No entanto, em 1955, o parasito foi registrado pela primeira vez em carnívoros silvestres, quando isolado por Deane e Deane, das vísceras e pele de um cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*). No artigo, o hospedeiro é descrito como raposa-do-campo (*Lycalopex vetulus*), porém sua identificação foi posteriormente revisada por Courtenay e colaboradores (1996). A partir desta data, diversos outros hospedeiros carnívoros silvestres foram identificados. Roque e Jansen (2014) indicam que pelo menos oito espécies, além do cachorro-do-mato, podem atuar como hospedeiros de *Leishmania* spp. nas Américas: o cachorro-vinagre (*Speothos venaticus*), a raposa-do-campo

(*Lycalopex vetulus*), o lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*), a onça-parda (*Puma concolor*), a onça-pintada (*Panthera onca*), o quati (*Nasua nasua*), o jupará (*Potos flavus*) e o zorrilho (*Conepatus chinga*). No Brasil, outros estudos ainda sugerem presença de *Leishmania* spp. em quatro jaguatiricas (*Leopardus pardalis*), sendo três indivíduos provenientes de cativeiro e apenas um de vida livre (JORGE, 2008; LIMA, 2018; TOLENTINO, 2019). Além disso, pesquisas realizadas em zoológicos brasileiros indicam que animais exóticos, como leões (*Panthera leo*) e tigres-siberianos (*Panthera tigris altaica*), sejam capazes de atuar como hospedeiros do parasito em cativeiro (DAHROUG, 2011; TOLENTINO, 2019).

Já em vida livre, as populações susceptíveis podem se encontrar em diferentes ambientes. Entre eles, os agrossistemas se destacam por suas plantações atraírem grupos específicos de animais e, dessa forma, os agrossistemas podem atrair predadores, como carnívoros, através da abundância de oferta alimentar (BRAGA, 2019). A jaguatirica, maior mesofelino do Brasil e o terceiro maior felino da região Neotropical (OLIVEIRA, 2013), é um exemplo de animal que pode ser atraído por populações de presas vivas para consumo (CONCONE, 2004).

Jaguatiricas possuem distribuição continental e ocorrem desde o sul do estado do Texas, Estados Unidos da América, até o norte da Argentina, podendo ser encontrados em todo território brasileiro, exceto nos Pampas do Rio Grande do Sul (MURRAY E GARDNER, 1997; OLIVEIRA, 2013). Embora adaptáveis a ambientes alterados, como cultivos agrícolas, jaguatiricas dependem de remanescentes de vegetação natural para se estabelecerem (OLIVEIRA, 2010). O risco de extinção desta espécie, de acordo com a União Internacional para a Conservação da Natureza (IUCN), é pouco preocupante.

Cerdocyon thous é outro exemplo de espécie capaz de ser tolerante a perturbações antrópicas, havendo diversos registros de sua presença em paisagens modificadas (BEISIEGEL, 2013). Os cachorros-do-mato são generalistas e flexíveis no que se relaciona ao hábitat, apresentando predileção por bordas e ambientes mais abertos a matas densas (BEISIEGEL, 2013). Seu *status* de conservação na lista vermelha da IUCN é pouco preocupante. A espécie tem ampla distribuição na América do Sul, ocorrendo em todos os biomas brasileiros, exceto na Floresta Amazônica Oriental (COURTENAY e MAFFEI, 2004). No que se refere à infecção por *Leishmania* spp., Roque e Jansen (2014) apontam desenvolvimento de sintomas graves da doença em animais infectados como em cães domésticos, com diversos relatos de casos diagnosticados pelas mais diferentes metodologias.

Embora agroecossistemas possam oferecer recursos para o estabelecimento de populações destes carnívoros, o ambiente os expõe a agroquímicos utilizados na manutenção das lavouras, que podem ter efeitos negativos na saúde dos animais. Pesquisas sugerem que o uso de agrotóxicos tem efeito imunossupressor (CHRISTIN, 2004), além de induzir toxicidade em células e tecidos de mamíferos (MITRA, 2019), incluindo macrófagos (CRITTENDEN, 1998), células com papel importante na resposta imune à *Leishmania* spp. Ademais, Braga, em seu estudo realizado em 2019, também relaciona a utilização de agrotóxicos a baixas condições de saúde de carnívoros silvestres.

Neste contexto, Roque e Jansen (2014) sugerem que qualquer estudo que tente entender parâmetros relativos à ecologia de *Leishmania* spp. deve incluir carnívoros, especialmente em biomas brasileiros como do Pantanal e Cerrado, onde estes animais, além de abundantes, representam grande parte da biomassa do ecossistema.

O Pantanal, a maior planície inundável do planeta é considerado pela UNESCO (Organização das Nações Unidas para a Educação, a Ciência e a Cultura) desde 2000 como uma Reserva da Biosfera. Localizada na Bacia do Alto Paraguai, esta planície intermitentemente inundada ocupa uma área de 138.183 km² do território brasileiro. O bioma é dividido, de acordo com Silva e Abdon (1998), em 11 sub-regiões distintas por aspectos fisiomorfológicos e geopolíticos.

O Cerrado, segundo maior bioma do Brasil, cobre 24% do planalto central do Brasil, com cerca de dois milhões de km², com seus 11 tipos diferentes de vegetação. Conhecido como savana brasileira, é considerado por Myers (2000) como um dos hotspots de biodiversidade mundiais prioritários para conservação. De acordo com Reis (2017), a expansão desordenada da agropecuária é uma das principais problemáticas que coloca o bioma em risco.

A partir desse contexto, o presente trabalho visa avaliar a presença de anticorpos anti-*Leishmania* spp. em carnívoros silvestres das espécies *Cerdocyon thous* e *Leopardus pardalis* em área de ecótono de Pantanal e Cerrado no Mato Grosso do Sul, Brasil.

2. Referências

- ALVAR, J.; VÉLEZ, I. D.; BERN, C.; HERRERO, M.; DESJEUX, P.; CANO, J.; JANNIN, J.; DEN BOER, M. Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. **PLoS ONE**, v. 7, n. 5, e35671, 2012.
- ASFARAM, S.; FAKHAR, M.; TESHNIZI, S. H. Is the cat an important reservoir host for visceral leishmaniasis? A systematic review with meta-analysis. **Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases**, Botucatu, v. 25, e20190012, 2019.
- ASHFORD, R. W. The leishmaniasis as emerging and reemerging zoonoses. **International Journal for Parasitology**, v. 30, n. 12-13, p. 1269-1281, 2000.
- BEISIEGEL, B. M.; LEMOS, F. G.; AZEVEDO, F. C.; QUEIROLO, D.; JORGE, R. S. P. Avaliação do risco de extinção do Cachorro-do-mato *Cerdocyon thous* (Linnaeus, 1766) no Brasil. **Biodiversidade Brasileira**, v. 3, n. 1, p. 138–145, 2013.
- BOTELHO, A. C. A.; NATAL, D. Primeira descrição epidemiológica da leishmaniose visceral em Campo Grande, Estado de Mato Grosso do Sul. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, n. 5, p. 503–508, 2009.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral**. 1. ed. Brasília, 2014. 122 p.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Boletim Epidemiológico: Panorama da vigilância de doenças crônicas não transmissíveis no Brasil**. Brasília, v. 50, n. 40, 2019. 15 p.
- BRAZUNA, J. C. M.; SILVA, E. A.; BRAZUNA, J. M.; DOMINGOS, I. H.; CHAVES, N.; HONER, M. R.; VAN ONSELEN, V. J.; OLIVEIRA, A. L. L. Profile and geographic distribution of reported cases of visceral leishmaniasis in Campo Grande, State of Mato Grosso do Sul, Brazil, from 2002 to 2009. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 45, n. 5, p. 601–606, 2012.
- BRAGA, L. Q. V. **Perfil sorológico e molecular de 20 parasitos e avaliação clínica de jaguatiricas (*Leopardus pardalis*) e cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*) em agroecossistema no Pantanal de Miranda, Brasil**. 2019. 56 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Monitoramento Ambiental) – Universidade Federal da Paraíba, Rio Tinto, 2019.
- BURZA, S.; CROFT, S. L.; BOELAERT, M. Leishmaniasis. **The Lancet**, v. 392, n. 10151, p. 951–970, 2018.
- CHEIDA, C. C.; NAKANO-OLIVEIRA, E.; FUSCO-COSTA, R.; ROCHA-MENDES, F.; QUADROS, J. Ordem Carnívora. In: REIS, N. R.; PERACCHI, A. L.; PEDRO, W. A.; LIMA, I. P. (Eds.) **Mamíferos do Brasil**. 2 ed. Londrina: Nelio R. dos Reis. 2011. p. 235- 288.

CHRISTIN, M. S.; MÉNARD, L.; GENDRON, A. D.; RUBY, S.; CYR, D.; MARCOGLIESE, D. J.; ROLLINS-SMITH, L.; FOURNIER, M. Effects of agricultural pesticides on the immune system of *Xenopus laevis* and *Rana pipiens*. **Aquatic Toxicology**, v. 67, n. 1, p. 33–43, 2004.

CLEAVELAND, S.; MESLIN, F. X.; BREIMAN, R. Dogs can play useful role as sentinel hosts for disease. **Nature**, v. 440, n. 30, p. 605, 2006.

CONCONE, H. V. B. **Aspectos da ecologia e conservação da jagatirica**. 2004. 80 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Conservação) – Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2004.

COURTENAY, O.; MAFFEI, L. Crab-eating fox *Cerdocyon thous* (Linnaeus, 1766). In: SILLERO-ZUBIRI, C.; Hoffmann, M.; MACDONALD, D. W. (Eds.). **Canids: foxes, wolves, jackals and dogs: Status survey and conservation action plan**. 1. ed. Gland: IUCN. 2004. p. 32-38.

COURTENAY, O.; SANTANA, E. W.; JOHNSON, P. J.; VASCONCELOS, I. A. B.; VASCONCELOS, A. W. Visceral leishmaniasis in the hoary zorro *Dusicyon vetulus*: A case of mistaken identity. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 90, n. 5, p. 498–502, 1996.

CRITTENDEN, P. L.; CARR, R.; PRUETT, S. B. Immunotoxicological assessment of methyl parathion in female b6c3f1 mice. **Journal of Toxicology and Environmental Health - Part A**, v. 54, n. 1, p. 1–20, 1998.

DAHROUG, M. A. A.; ALMEIDA, A. B. P. F.; SOUSA, V. R. F.; DUTRA, V.; GUIMARÃES, L. D.; SOARES, C. E.; NAKAZATO, L.; SOUZA, R. L. The first case report of *Leishmania* (Leishmania) *chagasi* in *Panthera leo* in Brazil. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 1, n. 3, p. 249–250, 2011.

DEANE, L. M.; DEANE, M. P. Observações preliminares sobre a importância comparativa do homem, do cão e da raposa (*Lycalopex vetulus*) como reservatórios da *Leishmania donovani* em áreas endêmicas de Calazar, no Ceará. **Hospital**, Rio de Janeiro, v. 48, p. 79–98, 1955.

JORGE, R. S. P. **Caracterização do Estado Sanitário dos Carnívoros Selvagens da RRPN SESC Pantanal e de Animais Domésticos da Região**. 2008. 106 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

LIMA, V. F. S. **Agentes Parasitários em Animais Silvestres, Sinantrópicos e Domésticos: Aspectos Clínicos, Epidemiológicos e de Saúde Pública**. 2018. 218 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal Tropical) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2018.

MATO GROSSO DO SUL. Secretaria de Estado de Saúde. **Informe Epidemiológico nº 01/2018: Leishmaniose Visceral no Mato Grosso do Sul — Semana Epidemiológica 1 a 52 de 2017**. 2018.

MITRA, A.; SARKAR, M.; CHATTERJEE, C. Modulation of Immune Response by Organophosphate Pesticides: Mammals as Potential Model. **Proceedings of the Zoological Society**, v. 72, n. 1, p. 13–24, 2019.

MURRAY, J. L.; GARDNER, G. L. *Leopardus pardalis*. **Mammalian Species**. v. 548, p. 1–10, 1997.

MYERS, N.; MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER, C. G.; FONSECA, G. A. B.; KENT, JENNIFER. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**. v. 403, p. 853–858, 2000.

OLIVEIRA, T. G. de.; TORTATO, M. A.; SILVEIRA L.; KASPER, C. B.; MAZIM, F. D.; LUCHERINI, M.; JÁCOMO, A. T.; SOARES, J. B. G.; MARQUES, R. V.; SUNQUIST, M. E. Ocelot ecology and its effect on the small-felid guild in the lowland neotropics. In: MACDONALD, D. W.; LOVERIDGE, A. J. (Eds.). **Biology and conservation of the wild felids**. 1. ed. Oxford: Oxford University Press, 2010. v. 1. p. 559–580.

OLIVEIRA, T. G.; ALMEIDA, L. B.; CAMPOS, C. B. Avaliação do risco de extinção da jaguatirica *Leopardus pardalis* (Linnaeus, 1758) no Brasil. **Biodiversidade Brasileira**, v. 3, n. 1, p. 66–75, 2013.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE. **Leishmanioses**: Informe Epidemiológico das Américas. n. 8, 2019.

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. **Información general: Leishmaniasis**. Disponível em: <https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=9417:2014-info-rmacion-general-leishmaniasis&Itemid=40370&lang=en>. Acesso em: 20 fev. 2020.

PENNISI, M. G. et al. Leishmaniosis in cats: ABCD guidelines on prevention and management. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 15, n. 7, p. 638–642, 2013.

REY, L. **Parasitologia**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2008.

REIS, T.; RUSSO, G.; RIBEIRO, V.; MOUTINHO, P.; GUIMARÃES, A.; STABILE, M.; ALENCAR, A.; CRISOSTOMO, A. C.; SILVA, D.; SHIMBO, J. Climate challenges and opportunities in the Brazilian Cerrado. **Instituto de Pesquisa Ambiental da Amazônia**. 2017.

ROCHA, F. L.; ROQUE, A. L. R.; ARRAIS, R. C.; SANTOS, J. P.; LIMA, V. S.; XAVIER, S. C. C.; CORDEIRO-ESTRELA, P.; D'ANDREA, P. S.; JANSEN, A. M. *Trypanosoma cruzi* TcI and TcII transmission among wild carnivores, small mammals and dogs in a conservation unit and surrounding areas, Brazil. **Parasitology**, v. 140, n. 2, p. 160–170, 2012.

ROCHA, F. L.; ROQUE, A. L. R.; LIMA, J. S.; CHEIDA, C. C.; LEMOS, F. G.; AZEVEDO, F. C. ARRAIS, R. C.; BILAC, D.; HERRERA, H. M.; MOURÃO, G.; JANSEN, A. M. *Trypanosoma cruzi* Infection in Neotropical Wild Carnivores (Mammalia: Carnivora): At the Top of the T. cruzi Transmission Chain. **PLoS ONE**, v. 8, n. 7, e67463, 2013.

ROQUE, A. L. R.; JANSEN, A. M. Wild and synanthropic reservoirs of *Leishmania* species in the Americas. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v. 3, n. 3, p. 251–262, 2014.

SILVA, J. S. V.; ABDON, M. M. Delimitação do Pantanal Brasileiro e suas sub-regiões. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 33, n. 10, p. 1703–1711, 1998.

SOLANO-GALLEGO, L.; KOUTINAS, A.; MIRÓ, G.; CARDOSO, L.; PENNISI, M. G.; FERRER, L.; BOURDEAU, P.; OLIVA, G.; BANETH, G. Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis. **Veterinary Parasitology**, v. 165, n. 1–2, p. 1–18, 2009.

SOULÉ, M. E.; TERBORGH, J. Conserving nature at regional and continental scales — a scientific program for North America. **BioScience**, v. 49, n. 10, p. 809–817, 1999.

TOLENTINO, N.; PINHEIRO, G. R. G.; OTTINO, J.; OLIVEIRA, A. R.; COELHO, C. M.; TINOCO, H. P.; FUJIWARA, R. T.; SANTOS, R. L.; RIBEIRO, V. M. Serological evidence of *Leishmania* infection by employing ELISA and rapid tests in captive felids and canids in Brazil. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 17, 100308, 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. 2020. **Leishmaniasis: Brazil** — Leishmaniasis country profiles. Disponível em: <https://www.who.int/leishmaniasis/burden/Leishmaniasis_Brazil/en/>. Acesso em: 20 fev. 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Neglected tropical diseases: Prevention, control, elimination and eradication**. Geneva, 2013. (Sixty-Sixth World Health Assembly - A66/20).

WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO Technical Report Series 949. **Report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniases, Geneva, 22–26 March 2010**. Geneva, 2010.

YARZON, R. M. de G. B. et al. Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) em Mato Grosso do Sul. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 36, n. suplementar 2, p. 41–42, 2003.

Investigação Sorológica de *Leishmania* spp. em *Cerdocyon thous* e *Leopardus pardalis* no Pantanal Sul Mato-Grossense, Brasil

Manuscrito a ser submetido na revista *Journal of Wildlife Diseases*

3.1. Introdução

As leishmanioses compreendem um grupo de doenças consideradas como a terceira em importância em saúde pública dentre as doenças transmitidas por vetores (Solano-Gallego et al 2009). Apesar de seu impacto, é uma das 18 doenças tropicais negligenciadas (WHO 2013). Estas parasitoses de caráter zoonótico, causadas por protozoários do gênero *Leishmania*, tem impacto em populações de animais domésticos e silvestres, e afetam, anualmente, mais 1,6 milhão de pessoas no mundo (Alvar et al 2012). Sua transmissão envolve um vetor flebotomíneo do gênero *Lutzomyia*, nas Américas, e um hospedeiro mamífero (Burza et al 2018, WHO 2010).

O Brasil é um dos países mais afetados pelas parasitoses, onde as doenças são consideradas emergentes e reemergentes, com uma das maiores prevalências de casos humanos positivos de todo o mundo e apresentando altos índices de mortalidade pela forma visceral da patologia (Asfaram et al 2019, Ashford 2000, Brasil 2019, OPAS 2019).

O conhecimento dos hospedeiros e reservatórios de *Leishmania* spp. é a chave para o controle da doença (Bonilla 2017). Um mamífero infectado pelo parasito é considerado seu hospedeiro, entretanto, o seu papel no ciclo de transmissão depende das singularidades das interações parasito-hospedeiro (Roque e Jansen 2014). Quando participam da manutenção de determinado parasito na natureza, as espécies são classificadas como hospedeiros reservatórios. Os reservatórios funcionam como um sistema que inclui uma ou mais espécies de hospedeiros, cada uma desempenhando papéis diferentes para a permanência do parasito no ambiente em um determinado intervalo de espaço e tempo (Roque e Jansen 2014).

Em ambiente urbano e periurbano, o cão doméstico (*Canis lupus familiaris*) é considerado o reservatório mais importante de *Leishmania* spp. na América do Sul (Brasil 2014, Dantas-Torres 2009). O papel dos felinos nos ciclos doméstico e silvestre de *Leishmania* spp. ainda não está claro, apesar de a leishmaniose ser considerada uma doença emergente nestes animais (Pennisi e Persichetti 2018). Alguns autores propõem que felinos

sejam hospedeiros acidentais do parasito, no entanto, há discussões acerca de sua participação no ciclo de transmissão da *Leishmania* spp. como reservatórios primários ou secundários (Maia e Campino 2011, Soares et al 2016). Os animais são considerados como reservatórios primários quando conseguem manter o parasito, que persiste indefinidamente neste único hospedeiro, no ambiente na ausência de outros hospedeiros, e secundários quando os hospedeiros parasitados podem transmitir a infecção e participam da manutenção do parasito na natureza junto ao hospedeiro primário, não sendo capaz de mantê-lo no ambiente sozinho (Quinnell e Courtenay 2009). Em áreas endêmicas para *Leishmania* spp., Asfaram e colaboradores (2019), através de meta-análise de artigos sobre leishmaniose felina, concluíram que gatos são reservatórios do parasito.

Já no ambiente silvestre, há registros de hospedeiros e reservatórios para *Leishmania* spp. na América do Sul de sete ordens: Carnivora, Chiroptera, Cingulata, Didelphimorphia, Pilosa, Primata e Rodentia, todas com representantes no Brasil. Destas, destacam-se os roedores que, além de formarem a ordem mais diversificada de mamíferos no mundo todo, é a mais estudada em relação à infecção por *Leishmania* spp., com pesquisas experimentais e de campo; e os morcegos que, por meio de características como voo e longevidade, podem ter papel importante na dispersão de parasitos (Roque e Jansen 2014, Nunes 2018).

A relação entre *Leishmania* spp. e carnívoros silvestres começou a ser investigada após a primeira descrição de infecção pelo parasito em um cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) (Deane e Deane 1955, Courtenay 1996). Após isso, diversos outros carnívoros, tanto em vida livre quanto em cativeiro, foram descritos como hospedeiros do protozoário. Nas Américas, pode-se citar o cachorro-vinagre (*Speothos venaticus*), a raposa-do-campo (*Lycalopex vetulus*), o lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*), o quati (*Nasua nasua*), o jupará (*Potos flavus*) e o zorrilho (*Conepatus chinga*) (Roque e Jansen 2014). Nesse contexto, diversos estudos demonstram que o cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) é importante reservatório do parasito no ambiente silvestre (Roque e Jansen 2014).

Os poucos relatos existentes de infecção por *Leishmania* spp. em felinos silvestres remetem a animais provenientes de cativeiro, como onças-pardas (*Puma concolor*), onças-pintadas (*Panthera onca*), leões (*Panthera leo*) e tigres-siberianos (*Panthera tigris altaica*) (Dahroug et al 2010, Dahroug et al 2011, Tolentino et al 2019). Destes, há registros de infecção em vida livre somente em onças-pintadas (Zarza et al 2015). Para as jaguatiricas (*Leopardus pardalis*), foram descritos apenas quatro indivíduos positivos, sendo três em

cativeiro e um único animal de vida livre, todos no Brasil, no Pantanal e na Mata Atlântica (Jorge 2008, Lima 2018, Tolentino 2019).

Segundo o primeiro informe epidemiológico de 2018 da Secretaria de Saúde do Mato Grosso do Sul, entre 2010 e 2017, ocorreram 1.605 casos de leishmaniose visceral no Estado com 112 óbitos, sendo destes 960 casos (59,6%) e 48 óbitos registrados na capital Campo Grande, onde a doença é avaliada como endêmica (Brazuna et al 2012). No mesmo período, na cidade de Miranda, mais no interior do Estado, foram confirmados 14 casos humanos da doença.

Nessa região, a fazenda onde o presente estudo foi conduzido, cerca de 35km da cidade de Miranda, é conhecida por ser uma área de excepcional visualização de carnívoros, mesmo comparado a outras regiões de Pantanal, especialmente de jagatiricas (Concone 2004). Considerando que gatos domésticos são potenciais reservatórios de *Leishmania* spp., compreender se felinos silvestres em vida livre participam dos ciclos de transmissão é importante para uma melhor compreensão desta zoonose no ambiente silvestre. Neste cenário, o objetivo do presente estudo foi avaliar a soroprevalência de anticorpos anti-*Leishmania* em carnívoros silvestres das espécies *Cerdocyon thous* e *Leopardus pardalis* em área de ecótono de Pantanal e Cerrado no Mato Grosso do Sul, Brasil.

3.2. Material e Métodos

O estudo foi conduzido em uma fazenda (20° 05' 10" S e 56° 36' 57" W), que possui 8.970 hectares (ha), localizada a cerca de 30 km do município de Miranda no Pantanal do Mato Grosso do Sul - MS (Fig.1). A fazenda é estabelecida em uma área de ecótono entre o Cerrado e o Pantanal, na sub-região denominada Pantanal de Miranda, na Bacia do Alto Paraguai, e é limitada pelo Rio Miranda, BR 232, BR 262 e outras propriedades particulares. A fazenda está, ainda, inserida em um contínuo de mata preservada que se estende antes e a partir do Rio Miranda. O relevo da área é de planície intermitentemente inundada (Silva e Abdon 1998), sendo a área cercada por trechos dos rios Miranda, Aquidauana e Abobral. A fitofisionomia do Pantanal de Miranda é composta, majoritariamente, por cerradão, cerrado, mata semidecídua e campo seco (Silva et al 2000). O clima da região é tropical úmido e quente com presença de duas estações, chuvosa e seca, bem marcadas: o período mais intenso de chuvas ocorre entre os meses de outubro a março, enquanto a temporada seca se concentra

nos meses de abril a setembro (Rodela e Neto 2006). A pluviosidade média, medida na fazenda, é de 1300 mm/ano.

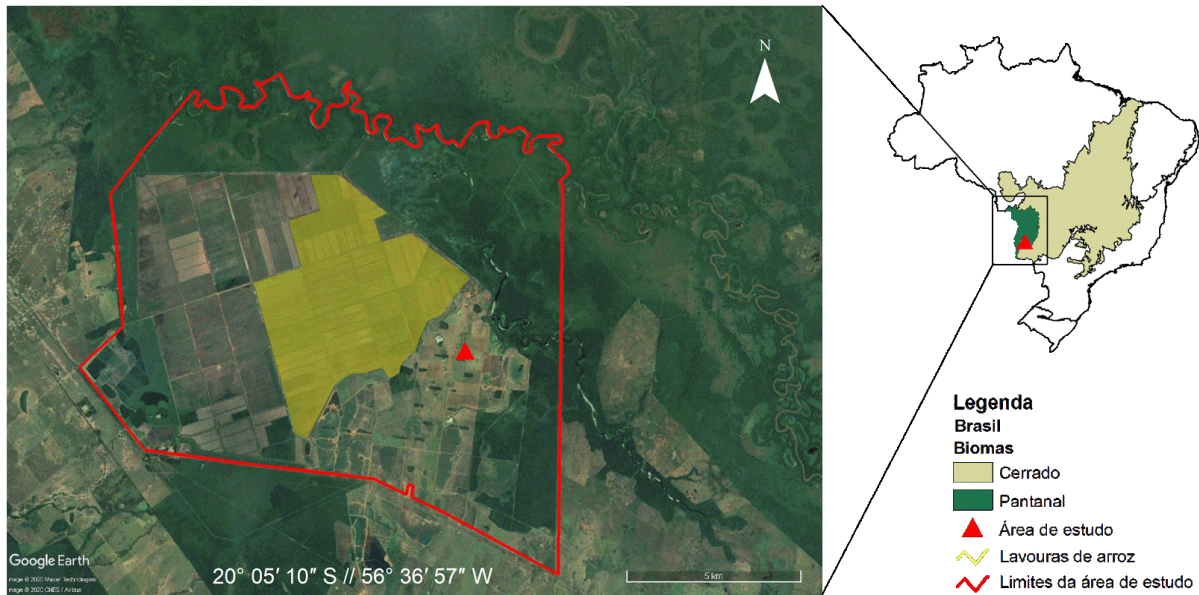


Figura 1 - Mapa da área de amostragem de *Leopardus pardalis* e *Cerdocyon thous* para investigação da soroprevalência de *Leishmania* spp. no Município de Miranda, Mato Grosso do Sul. As cores indicam os limites da fazenda e área de lavoura de arroz, conforme a legenda da figura.

Próximo ao rio Miranda, há reservas legais e Áreas de Preservação Permanentes de Floresta Estacional Semidecídua com árvores de dossel de 15 m, chegando até 30 m. Os remanescentes de vegetação nativa do Cerrado se situam a oeste e sudoeste da área de estudo (Concone 2004).

A fazenda atua em três principais eixos de trabalho: pecuária de corte, cultivo de arroz irrigado e ecoturismo. As duas primeiras atividades ocorrem desde 1975 e 1984, respectivamente. Atualmente, a pecuária ocupa 2.100 ha, havendo, nesta área, remanescentes de vegetação nativa que variam entre 1 e 2 ha, e o cultivo de arroz se estende por uma área total, incluindo adjacências, de 3.200 ha, onde há, na lateral da lavoura, um corredor de mata secundária arbórea de 3,5 km de extensão e canais de irrigação que se estendem por 13 km (Concone 2004, Braga 2019). Ao longo do ano, nesta mesma área, há culturas menores de milho e soja. Para aumentar a produtividade nas lavouras são utilizados agroquímicos, com glifosato, por pulverização aérea. Além disso, há uma área de 70 ha de cultivo de eucalipto

(*Eucalyptus globulus*). As atividades de ecoturismo, para observação dos animais silvestres em vida livre, atraem para a fazenda cerca de 5 mil pessoas por ano (Braga 2019).

As capturas dos carnívoros de médio porte fizeram parte do trabalho de mestrado de Braga (2019), onde armadilhas foram dispostas em diferentes áreas da fazenda, como lavouras, pastagens e plantação de eucalipto, durante 66 dias, entre os meses de agosto e dezembro de 2018. Foram utilizadas 20 armadilhas de caixa armada de ferro galvanizado com dimensões de 60 × 60 × 150 cm e 115 × 53 × 58 cm. As armadilhas foram iscadas, com o intuito de atrair os animais, com *bacon* aquecido, sardinha enlatada e coxas de frango, de forma semelhante ao descrito por Rocha (2013) e Dahroug (2014) também no Pantanal, sub-região da Nhecolândia. Os pontos de coleta foram definidos através de vestígios indiretos das espécies, como pegadas e fezes, registros de armadilhas fotográficas instaladas durante o período de amostragem e locais georreferenciados onde os animais eram observados, visando maximizar o sucesso de captura. No total, as armadilhas foram distribuídas em 44 pontos, abertas ao final da tarde e vistoriadas no início da manhã. Cada armadilha foi coberta com folhas de acuri (*Attalea phalerata*) e forrada com areia e folhagem, com o intuito de minimizar o estresse dos animais capturados e diminuir a incidência solar e riscos de lesões na grade.

A contenção química dos indivíduos capturados foi realizada por via intramuscular por dois protocolos: 8 mg/kg de Zoletil® ou combinação de quetamina 15 mg/kg, xilazina 0,7 mg/kg e midazolan 0,5 mg/kg (Braga 2019). Havendo necessidade de reversão da anestesia, foi utilizado ioimbina. Durante todos os procedimentos, que duraram em média 40 minutos, foi feito monitoramento do tempo de indução e duração da anestesia e aferição de frequências cardíacas e respiratória, e temperatura retal dos indivíduos em intervalo de 10 minutos. Os animais foram mantidos vendados, para redução de estímulos visuais, e, para evitar ressecamento da córnea, foi utilizado o colírio Epitegel®.

As informações de cada animal foram registradas em fichas de identificação próprias. Os indivíduos tiveram sexo, faixa etária e peso avaliados e determinados. Para as últimas duas, foram utilizados como parâmetros a coloração e desgaste da dentição, peso e tamanho do indivíduo. A avaliação do estado físico de saúde dos animais foi feita através de exame clínico, observando sinais de desidratação e coloração das mucosas (Braga 2019).

Foram coletadas amostras de sangue em tubos sem anticoagulantes para diagnóstico sorológico por punção de veia cefálica ou jugular. Nas primeiras seis horas após a coleta, as

amostras foram centrifugadas. O soro foi separado em alíquotas de 500 µl e congelado para posterior sorologia.

Após os procedimentos, os indivíduos foram colocados na armadilha, protegidos do sol até recuperação total da anestesia, e soltos no mesmo local de captura.

3.2.1. Processamentos Laboratoriais

3.2.1.1. Diagnóstico sorológico de *Leishmania* spp.

O diagnóstico sorológico foi realizado pelo Laboratório de Imunoparasitologia Veterinária da Universidade Estadual Paulista (UNESP/SP/Jaboticabal) através de pesquisa de anticorpos da classe IgG por Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) (Camargo 1964) utilizando kits IMUNOTEST® (Imunodot Diagnostics), seguindo instruções do fabricante e diluições de 1:40. Para isto, foram utilizados conjugados de cão e gato domésticos para *Cerdocyon thous* e *Leopardus pardalis*, respectivamente. Foram consideradas positivas as reações com títulos ≥ 40 (Brasil 2014).

A escolha do método diagnóstico se baseou na revisão bibliográfica realizada por Asfaram e colaboradores (2019), que aponta a RIFI como método diagnóstico mais utilizado mundialmente para infecção por *Leishmania* spp. em felinos, no intuito de possibilitar a comparação dos resultados obtidos com a literatura existente.

3.2.1.2. Critérios de positividade

Realizamos sorologias sob os mesmos protocolos de RIFI (Camargo 1964) utilizando promastigotas de *Trypanosoma cruzi* e *Trypanosoma evansi* como antígenos no intuito de excluir possibilidades de reação cruzada com estes parasitos (Ferreira 2007; Luciano 2009; Zanette 2014).

Havendo positividade em mais de um teste sorológico, as titulações duas vezes superiores foram aceitas como indicativo de exposição ao parasito (Luciano et al 2009). Quando os resultados sorológicos foram positivos para mais de um protozoário, não havendo diferença entre as titulações ou estas divergindo em apenas uma diluição, consideramos os resultados como indeterminados.

3.2.1.3. Atendimento a Normas Éticas e Licenças

As atividades de campo e os processos de captura, manipulação de animais e coletas de amostras dos mamíferos silvestres foram aprovados pelo órgão ambiental federal Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio), através do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO), sob licença de número 31895. O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso Animal (CEUA) da Universidade Federal da Paraíba, sob protocolo de número 7478200418 (ID 000109).

A captura e manipulação dos animais respeitou as diretrizes do Guia de Captura e Manejo aprovado pelo Comitê da Sociedade Americana de Cuidado e Uso Animal de Mamíferos (Sikes 2016). Durante todos os procedimentos de coleta e manuseio de amostras biológicas, foram respeitadas as normas de biossegurança e houve utilização de equipamentos de proteção individual.

3.2.1.4. Análises Estatísticas

A soroprevalência dos anticorpos anti-*Leishmania* na população foi estimada com a proporção de animais positivos dividida pelo total de animais amostrados. Além disso, as titulações sorológicas foram avaliadas graficamente.

3.3. Resultados

Dentre os animais capturados, treze eram jaguatiricas, sendo cinco indivíduos machos e oito fêmeas, todos adultos, exceto uma fêmea juvenil. Doze indivíduos eram cachorros-do-mato, sendo oito machos e quatro fêmeas. Em relação à classe etária, cinco indivíduos de cachorros-do-mato eram adultos, seis juvenis e um filhote.

Nas pesquisas sorológicas por RIFI, 11 dos 13 indivíduos de jaguatiricas foram positivos para anticorpos anti-*Leishmania* spp. As titulações (T) variaram entre 40 e 320. Vale ressaltar que houve recaptura de uma jaguatirica fêmea adulta após 28 dias com aumento de título na sorologia. Na captura, a titulação desse animal era de 80. Na recaptura, que ocorreu após 28 dias, a sorologia obteve título de 160.

Dentre as amostras positivas, quatro apresentaram titulações positivas concomitantes de 40 para *T. cruzi*. Duas amostras pertenciam ao indivíduo recapturado, sendo, assim, considerado positivo para *Leishmania* spp. pela titulação duas vezes superior encontrada na recaptura (T=160). Em relação às outras duas amostras, uma foi considerada positiva para *Leishmania* spp. e a outra indeterminada (Fig. 2). Um indivíduo foi considerado positivo para *T. evansi*, por sua titulação para este parasito ter sido quatro vezes superior em comparação a *Leishmania* spp. No total, excluindo os indivíduos considerados como reação cruzada ou indeterminado, nove jaguatiricas foram consideradas positivas para *Leishmania* spp., resultando em uma soroprevalência 69,2%. Dentre as positivas, 67% dos títulos foram ≥ 160 .

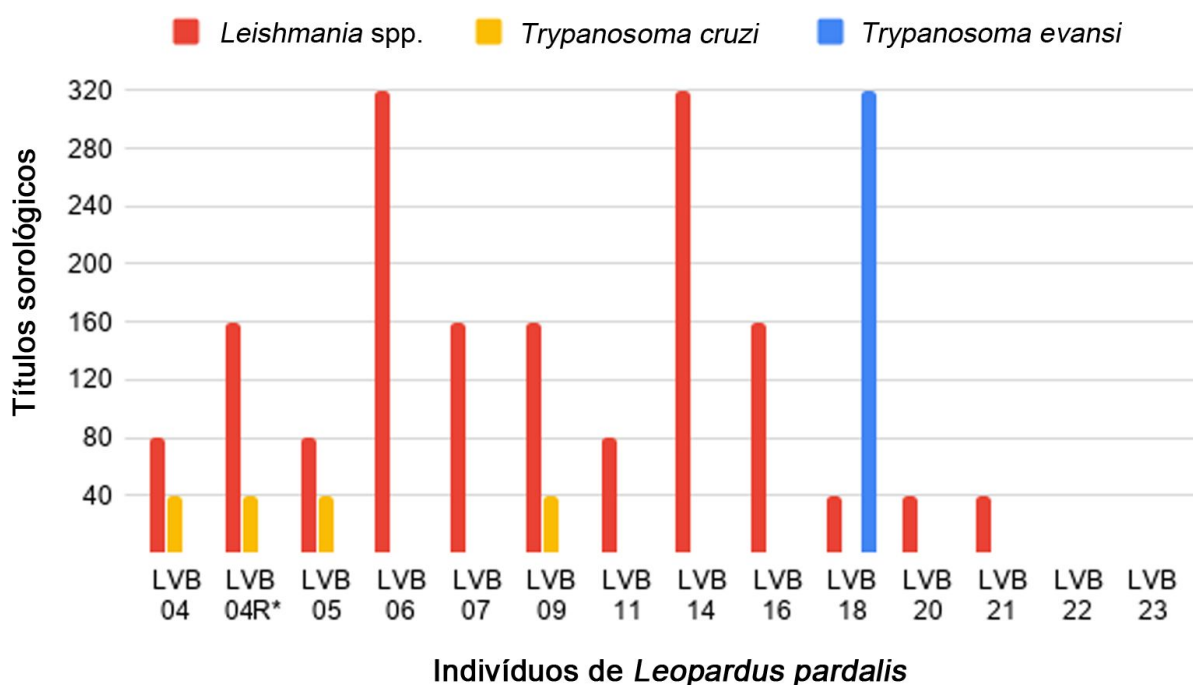


Figura 2 - Títulos sorológicos para anticorpos anti-*Leishmania* spp., anti-*Trypanosoma cruzi* e anti-*Trypanosoma evansi* avaliados por Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) com ponto de corte ≥ 40 em amostras de jaguatiricas (*Leopardus pardalis*) (n=13). R* = animal recapturado.

Dentre os animais positivos, os sinais clínicos observados na avaliação física foram desidratação leve e mucosas hipocoradas. Cinco jaguatiricas apresentaram desidratação leve e as mucosas de cinco estavam pálidas. Houve associação dos quadros de desidratação e palidez da mucosa em três animais.

Nenhuma amostra de cachorros-do-mato apresentou resultado positivo para anticorpos anti-*Leishmania* spp. nas pesquisas sorológicas por RIFI. Três amostras de doze foram positivas para *T. cruzi* com titulações de 40. Nenhuma amostra foi positiva na sorologia para *T. evansi*.

Tabela 1 - Classificação sexual (F: fêmeas, M: machos) e etária de jaguatiricas (*Leopardus pardalis*) capturadas no Pantanal de Miranda, Mato Grosso do Sul, Brasil em 2018, de acordo com número de campo (LVB); valores de títulos obtidos em Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) para *Leishmania* spp., *Trypanosoma cruzi* e *Trypanosoma evansi* (ponto de corte: 1:40); e achados clínicos encontrados em avaliação física (D: desidratação; MH: mucosas hipocoradas).

Indivíduos de <i>Leopardus pardalis</i>	Sexo	Classe Etária	RIFI <i>Leishmania</i> spp.	RIFI <i>Trypanosoma cruzi</i>	RIFI <i>Trypanosoma evansi</i>	Avaliação Física
LVB 04	F	Adulto	80	40	-	-
LVB 04 R*	F	Adulto	160	40	-	-
LVB 05	F	Adulto	80	40	-	D*, MH**
LVB 06	M	Adulto	320	-	-	D
LVB 07	M	Adulto	160	-	-	MH
LVB 09	M	Adulto	160	40	-	-
LVB 11	F	Adulto	80	-	-	D, MH
LVB 14	M	Adulto	320	-	-	D
LVB 16	F	Adulto	160	-	-	D, MH
LVB 18	F	Adulto	40	-	320	D, MH
LVB 20	F	Adulto	40	-	-	MH
LVB 21	F	Adulto	40	-	-	D, MH
LVB 22	M	Adulto	-	-	-	-
LVB 23	F	Juvenil	-	-	-	D, MH

3.4. Discussão

Este estudo reporta uma alta soroprevalência de *Leishmania* spp. em jaguatiricas de vida livre no Mato Grosso do Sul, Brasil. Com base na revisão sistemática e meta-análise realizada por Asfaram e colaboradores (2019), até onde sabemos, este trabalho apresenta a maior soroprevalência de *Leishmania* reportada em felinos, tanto domésticos como silvestres.

O primeiro e, até então, único registro de jaguatirica positiva para *Leishmania* spp. em vida livre foi feito por Jorge (2008) em sua tese desenvolvida na Reserva Particular de Patrimônio Natural (RPPN) SESC Pantanal, localizada na zona rural do município Barão de Melgaço, Mato Grosso. Neste trabalho, que utilizou PCR de sangue total ou coágulo e sequenciamento genético como métodos de diagnóstico, apenas um animal foi submetido aos testes.

Até mesmo em cativeiro, onde há mais acessibilidade às amostras, são poucos os relatos do parasito na espécie, havendo descrição de três jaguatiricas positivas para *Leishmania* spp. Lima (2018) descreveu uma jaguatirica cativa no Centro de Triagem de Animais Silvestres de Sergipe, CETAS/SE do IBAMA, positiva em PCR de sangue total para o complexo *Leishmania donovani*. Apenas este animal foi testado e não há informações da sua procedência. O outro relato foi realizado por Tolentino e colaboradores (2019), no qual duas jaguatiricas, provenientes do zoológico de Belo Horizonte, Minas Gerais, foram positivas para *Leishmania* spp. em dois testes sorológicos distintos: ambos os animais foram positivos no ELISA Safetest® e apenas um no ELISA rK39. Nenhuma das jaguatiricas deste estudo apresentou sinais clínicos de desenvolvimento de leishmaniose felina.

Pouco se sabe acerca da infecção por *Leishmania* spp. em felinos, mas os esforços da comunidade científica para entender as dinâmicas do parasito nestes animais aumentaram nos últimos anos, com a maioria dos estudos realizados no Brasil (Asfaram et al 2019). Embora a literatura seja escassa em relação à exposição de felinos silvestres ao parasito, para gatos domésticos já se sabe de infecção natural pelas mesmas espécies de *Leishmania* spp. que acometem cães e humanos em áreas tropicais e subtropicais ao redor do mundo, além da susceptibilidade à doença já confirmada em diversos estudos experimentais (Pennisi et al 2013). No Brasil, foram registradas três espécies do parasito em casos de infecção em felinos: *L. amazonensis*, *L. braziliensis* e *L. infantum* (Asfaram et al 2019).

A alta prevalência de infecção por *Leishmania* spp. em jaguatiricas descrita neste estudo pode estar relacionada a diversos fatores. Um deles é a condição de saúde das jaguatiricas na área de estudo. Pesquisas apontam que os gatos são mais resistentes ao desenvolvimento de leishmaniose que os cães, sendo a infecção assintomática mais comum, e que essa resistência natural pode estar relacionada a sua própria resposta imune conferindo a capacidade de controlar a infecção de modo mais efetivo (Solano-Gallego et al 2007, Pennisi et al 2013). No entanto, esta capacidade pode ser comprometida por baixa imunidade e

presença de coinfeções (Serrano e Millán 2013). Em estudo concomitante na mesma área, Braga (2019) encontrou que 84% dos carnívoros estava com infecções simultâneas de pelo menos três parasitos diferentes. Neste estudo as jaguatiricas se destacam por apresentarem uma baixa condição de saúde e estarem coinfectadas, em média, por 6,7 parasitos distintos.

Outra possibilidade é a influência da exposição a agrotóxicos. Estudos apontam que a utilização de agroquímicos provoca alterações nas respostas imunológicas mediadas por célula e humoral, além de induzir toxicidade em células de mamíferos, a exemplo dos macrófagos, importantes na resposta imunológica contra *Leishmania* spp. (Crittenden et al 1998, Helali et al 2016, Mitra et al 2019). Uma pesquisa em andamento sobre uso de habitat em mamíferos de médio porte na mesma área, utilizando armadilhas fotográficas, apontou que os registros de jaguatiricas foram mais frequentes nas lavouras irrigadas de arroz, cultivo que tipicamente utiliza altos níveis de agroquímicos, como visto na fazenda (Andressa Fraga comentário pessoal, Barrigossi et al 2004). Além disso, as jaguatiricas poderiam estar expostas a agrotóxicos por biomagnificação. Há relatos de acúmulo de metais pesados em carnívoros através da alimentação (Curi et al 2012) e, como carnívoras estritas, com parte importante de sua dieta sendo composta por pequenos mamíferos (Concone 2004, Oliveira et al 2013), as jaguatiricas poderiam estar susceptíveis a agroquímicos também pela predação de roedores contaminados nas lavouras.

Por fim, a ausência de outros relatos semelhantes pode ser um reflexo de poucas pesquisas do tema direcionadas para carnívoros silvestres em vida livre, devido às dificuldades inerentes à condução de pesquisas de campo com este grupo, que são de alto custo, além de dependerem da presença integral de profissionais especializados (Rocha et al 2013).

Em relação aos sinais clínicos, o quadro de desidratação e mucosas hipocoradas em sete jaguatiricas no presente estudo sugerem relação entre os achados clínicos e os resultados sorológicos de positividade para *Leishmania* spp., embora estes sejam inespecíficos e possam estar relacionados a diversas outras condições patológicas e ambientais. Os sinais clínicos da leishmaniose felina envolvem, principalmente, lesões cutâneas ou mucocutâneas e aumento do tamanho dos linfonodos, havendo também descrições de perda de peso, redução do apetite, letargia, febre, desidratação, mucosas hipocoradas, hepatomegalia, esplenomegalia e comprometimento ocular em diversos níveis (Pennisi et al 2013, Pennisi et al 2015, Soares et al 2016).

Soares e colaboradores (2016) sugerem que a hipótese de que gatos atuam como reservatórios está ganhando força, visto que (i) podem apresentar aumento de soropositividade entre análises, embora esse padrão seja variável entre gatos, (ii) eles podem ficar infectados por meses e, nesse caso, disponíveis para os flebotomíneos e (iii) podem transmitir o parasito para o vetor de forma competente. Ainda, Martín-Sánchez (2007) encontrou uma maior proporção de gatos com parasitemia detectável em animais com títulos sorológicos baixos. Em nosso estudo, encontramos uma jaguatirica recapturada com aumento de título após 28 dias e as demais com títulos no máximo de 320. Se os felinos silvestres tiverem padrão similar aos domésticos, os indivíduos do nosso estudo poderiam estar envolvidos na manutenção do parasito na área. Nossos resultados não nos permitem fazer inferências sobre o papel que as jaguatiricas estão desempenhando. De qualquer modo, seja como hospedeiros ou reservatórios, jaguatiricas podem ser importantes para manutenção do ciclo silvestre, pois são as que apresentam a maior área de distribuição e as maiores densidades, além de possuírem amplas áreas de vida em comparação com outros felinos (Oliveira et al 2010, Oliveira et al 2013).

A alta prevalência encontrada nas jaguatiricas, somada a evidências de estudo concomitante com armadilhamento fotográfico de que elas permaneceram na área por pelo menos 120 dias após a amostragem (Henrique Concone, com. pessoal), indica a presença do parasito na área. A despeito disso, os cachorros-do-mato foram negativos nas investigações sorológicas, um resultado inesperado considerando que estes animais são frequentemente citados em estudos de infecção por *Leishmania* spp. em animais silvestres de vida livre e cativeiro (Luppi et al 2008, Souza et al 2010, Jusi et al 2011, Roque e Jansen 2014). Uma das possíveis explicações para este achado pode ser o diferente uso de habitat pelos animais. O mesmo estudo que identificou os registros mais frequentes das jaguatiricas em lavouras de arroz indica que, embora os animais circulem por toda a extensão da fazenda, os cachorros-do-mato utilizam mais áreas de pecuária, florestas plantadas de eucalipto e plantações de milho e soja (Andressa Fraga, comentário pessoal). Sabe-se que flebotomíneos são sensíveis a pequenas variações no microhabitat e mudanças em condições físicas como temperatura e umidade podem alterar suas dinâmicas populacionais (Dias et al 2007). Dessa forma, os diferentes usos de habitat podem resultar em diferentes probabilidades de exposição aos ciclos de transmissão locais. Vale ressaltar que alguns parasitos investigados por Braga (2019) foram encontrados apenas em *Leopardus pardalis*, enquanto outros foram detectados

apenas em amostras de *Cerdocyon thous*, corroborando o mesmo padrão que relatamos para *Leishmania* spp.

Nosso estudo apresenta evidências sorológicas de infecção por *Leishmania* spp. em jaguatiricas de vida livre. Nossos resultados abrem caminhos para investigação do papel e importância dessa espécie, que é a mais bem distribuída e com as maiores densidades populacionais dentre os felinos, nos ciclos silvestres de transmissão de *Leishmania* spp.

3.5. Referências Bibliográficas

- Alvar J, Vélez ID, Bern C, Herrero M, Desjeux P, Cano J, Jannin J, de Boer M. 2012. Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. *PLoS One* 7.
- Asfaram S, Fakhar M, Teshnizi SH. 2019. Is the cat an important reservoir host for visceral leishmaniasis? A systematic review with meta-analysis. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis* 25:1–10.
- Ashford RW. 2000. The leishmaniasis as emerging and reemerging zoonoses. *Int J Parasitol* 30:1269–1281.
- Barrigossi J a F, Lanna AC, Ferreira E. 2004. Agrotóxicos no Cultivo do Arroz no Brasil: análise do consumo e medidas para reduzir o impacto ambiental negativo. *Embrapa Arroz e Feijão* 67:1–8.
- Bonilla, LMC. 2017. Estudo do ciclo de transmissão silvestre e Suburbano de *Leishmania* (Viannia) panamensis na Colômbia: avaliação do papel de *Didelphis marsupialis* (*Didelphimorphia*) e *Canis familiaris* (*Carnívora*) como potenciais reservatórios. Ph.D. Thesis, Doutorado em Medicina Tropical, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 262 pp.
- Braga LQV. 2019. Perfil sorológico e molecular de 20 parasitos e avaliação clínica de jaguatiricas (*Leopardus pardalis*) e cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*) em agroecossistema no Pantanal de Miranda, Brasil. Dissertation, Mestrado em Ecologia e Monitoramento Ambiental, Universidade Federal da Paraíba, Rio Tinto, 56 pp.
- Brasil. 2014. *Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral*. 1. ed. Ministério da Saúde, Brasília, Distrito Federal, 122 p.
- Brasil. 2019. Panorama da vigilância de doenças crônicas não transmissíveis no Brasil. In: *Boletim Epidemiológico* 40, Brasília, Distrito Federal, 31 December, pp. 15.
- Brazuna JCM, Silva EA, Brazuna JM, Domingos IH, Chaves N, Honer MR, van Onselen VJ, Oliveira ALL de. 2012. Profile and geographic distribution of reported cases of visceral leishmaniasis in Campo Grande, State of Mato Grosso do Sul, Brazil, from 2002 to 2009. *Rev Soc Bras Med Trop* 45:601–606.
- Burza S, Croft SL, Boelaert M. 2018. Leishmaniasis. *Lancet* 392:951–970.
- Camargo, M.E. 1964. Improved technique of indirect immunofluorescence for serological diagnosis of toxoplasmosis. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 6:117-118.
- Concone, HVB. 2004. Aspectos da ecologia e conservação da jaguatirica. 2004. Dissertation, Mestrado em Ecologia e Conservação, Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 80 pp.

- Courtenay O, Santana EW, Johnson PJ, Vasconcelos IAB, Vasconcelos AW. 1996. Visceral leishmaniasis in the hoary zorro *Dusicyon vetulus*: A case of mistaken identity. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 90:498–502.
- Crittenden PL, Carr R, Pruett SB. 1998. Immunotoxicological assessment of methyl parathion in female b6c3f1 mice. *J Toxicol Environ Heal* 54:1–20.
- Curi NHA, Brait CHH, Filho NRA, Talamoni SA. 2012. Heavy Metals in Hair of Wild Canids from the Brazilian Cerrado. *Biol Trace Elem Res* 147:97–102.
- Dahroug MAA. 2014. Estudo clínico, laboratorial e epidemiológico da infecção por *Toxoplasma gondii* em animais silvestres, bovinos, suínos e comunidades rurais da região de Nhecolândia, Pantanal, Brasil. Dissertation, Mestrado em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas, Rio de Janeiro, 119 pp.
- Dahroug MAA, Almeida ABPF, Sousa VRF, Dutra V, Guimarães LD, Soares CE, Nakazato L, de Souza RL. 2011. The first case report of *Leishmania* (*Leishmania*) *chagasi* in *Panthera leo* in Brazil. *Asian Pac J Trop Biomed* 1:249–250.
- Dahroug MAA, Almeida ABPF, Sousa VRF, Dutra V, Turbino NCMR, Nakazato L, de Souza RL. 2010. *Leishmania* (*Leishmania*) *chagasi* in captive wild felids in Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 104:73–74.
- Dantas-Torres F. 2009. Canine leishmaniosis in South America. *Parasites and Vectors* 2:1–8.
- Ferreira E de C, de Lana M, Carneiro M, Reis AB, Paes DV, Silva ES da, Schallig H, Gontijo CMF. 2007. Comparison of serological assays for the diagnosis of canine visceral leishmaniasis in animals presenting different clinical manifestations. *Vet Parasitol* 146:235–241.
- Deane LM, Deane MP. 1955. Observações preliminares sobre a importância comparativa do homem, do cão e da raposa (*Lycalopex vetulus*) como reservatórios da *Leishmania donovani* em áreas endêmicas de Calazar, no Ceará. *Hospital* 48:79–98.
- Dias ES, França-Silva JC, Da Silva JC, Monteiro EM, Paula KM, Gonçalves CM, Barata RA. 2007. Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) de um foco de leishmaniose tegumentar no Estado de Minas Gerais. *Rev Soc Bras Med Trop* 40:49–52.
- Ferreira EC, Lana M, Carneiro M, Reis AB, Paes DV, Silva ES, Schallig H, Gontijo CMF. 2007. Comparison of serological assays for the diagnosis of canine visceral leishmaniasis in animals presenting different clinical manifestations. *Vet Parasitol* 146:235–241.
- Helali I, Ferchichi S, Maaouia A, Aouni M, Harizi H. 2016. Modulation of macrophage functionality induced in vitro by chlorpyrifos and carbendazim pesticides. *J Immunotoxicol* 13:745–750.
- Jansen AM, Roque ALR. 2010. Domestic and Wild Mammalian Reservoirs. *Am Trypanos* 249–276.

- Jorge, RSP. 2008. Caracterização do Estado Sanitário dos Carnívoros Selvagens da RRPN SESC Pantanal e de Animais Domésticos da Região. Ph.D. Thesis, Doutorado em Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses, Universidade de São Paulo, São Paulo, 106 pp.
- Jusi MMG, Starke-Buzetti WA, Oliveira TMF de S, Tenório M da S, Sousa L de O de, Machado RZ. 2011. Molecular and serological detection of *Leishmania* spp. in captive wild animals from Ilha Solteira, SP, Brazil. *Rev Bras Parasitol Veterinária* 20:219–222.
- Lima, VFS. 2018. Agentes Parasitários em Animais Silvestres, Sinantrópicos e Domésticos: Aspectos Clínicos, Epidemiológicos e de Saúde Pública. Ph.D. Thesis, Doutorado em Ciência Animal Tropical, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 218 pp.
- Luciano RM, Lucheis SB, Troncarelli MZ, Luciano DM, Langoni H. 2009. Avaliação da reatividade cruzada entre antígenos de *Leishmania* spp e *Trypanosoma cruzi* na resposta sorológica de cães pela técnica de imunofluorescência indireta (RIFI). *Brazilian J Vet Res Anim Sci* 46:181–187.
- Luppi MM, Malta MCC, Silva TMA, Silva FL, Motta ROC, Miranda I, Ecco R, Santos RL. 2008. Visceral leishmaniasis in captive wild canids in Brazil. *Vet Parasitol* 155:146–151.
- Maia C, Campino L. 2011. Can domestic cats be considered reservoir hosts of zoonotic leishmaniasis? *Trends Parasitol* 27:341–344.
- Martín-Sánchez J, Acedo C, Muñoz-Pérez M, Pesson B, Marchal O, Morillas-Márquez F. 2007. Infection by *Leishmania infantum* in cats: Epidemiological study in Spain. *Vet Parasitol* 145:267–273.
- Mato Grosso do Sul. 2018. Leishmaniose Visceral no Mato Grosso do Sul — Semana Epidemiológica 1 a 52 de 2017. In: *Informe Epidemiológico nº 01/ 2018*. Cuiabá, Mato Grosso do Sul, pp. 6.
- Mitra A, Sarkar M, Chatterjee C. 2019. Modulation of Immune Response by Organophosphate Pesticides: Mammals as Potential Model. Springer India. *Proc Zool Soc* 72:13–24.
- Nunes, HLFL. 2018. Quiropterofauna urbana: estrutura da comunidade e avaliação da infecção por tripanosomatídeos na região metropolitana de João Pessoa, estado da Paraíba, Brasil. Thesis, Doutorado em Ciências Biológicas, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 250 pp.
- Oliveira TG, Tortato MA, Silveira L, Kasper C B, Mazim FD, Lucherini M, Jácomo AT, Soares JBG, Marques RV, Sunquist ME. 2010. Ocelot ecology and its effect on the small-felid guild in the lowland neotropics. In: *Biology and conservation of wild felids*, Macdonald DW, Loveridge AJ, editors. Oxford University Press, Oxford, pp. 559-580.
- Oliveira TG, Almeida LB, Campos CB. 2013. Avaliação do risco de extinção da jaguatirica *Leopardus pardalis* (Linnaeus, 1758) no Brasil. *Biodiversidade Brasileira*, 3: 66–75.

Oliveira TMFS, Furuta PI, de Carvalho D, Machado RZ. 2008. A study of cross-reactivity in serum samples from dogs positive for *Leishmania* sp., *Babesia canis* and *ehrlichia canis* in enzyme-linked immunosorbent assay and indirect fluorescent antibody test. *Rev Bras Parasitol Vet* 17:7–11.

Organização Pan-americana de Saúde. 2019. Leishmanioses: Informe Epidemiológico das Américas n. 8, December, pp. 1-10.

Pennisi MG, Cardoso L, Baneth G, Bourdeau P, Koutinas A, Miró G, Oliva G, Solano-Gallego L. 2015. LeishVet update and recommendations on feline leishmaniosis. *Parasites and Vectors* 8:1–18.

Pennisi MG, Hartmann K, Lloret A, Addie D, Belák S, Boucraut-Baralon C, Egberink H, Frymus T, Gruffydd-Jones T, Hosie MJ, et al. 2013. Leishmaniosis in cats: ABCD guidelines on prevention and management. *J Feline Med Surg* 15:638–642.

Pennisi MG, Persichetti MF. 2018. Feline leishmaniosis: Is the cat a small dog? *Vet Parasitol* 251:131–137.

Quinnell RJ, Courtenay O. 2009. Transmission, reservoir hosts and control of zoonotic visceral leishmaniasis. *Parasitology* 136:1915–1934.

Rocha FL, Roque ALR, de Lima JS, Cheida CC, Lemos FG, de Azevedo FC, Arrais RC, Bilac D, Herrera HM, Mourão G, et al. 2013. *Trypanosoma cruzi* Infection in Neotropical Wild Carnivores (Mammalia: Carnivora): At the Top of the *T. cruzi* Transmission Chain. *PLoS One* 8.

Roque ALR, Jansen AM. 2014. Wild and synanthropic reservoirs of *Leishmania* species in the Americas. The Authors. *Int J Parasitol Parasites Wildl* 3:251–262.

Rodela LG, Neto JPQ. 2006. Estacionalidade do clima no Pantanal da Nhecolândia, Mato Grosso do Sul. In: Anais 1º Simpósio de Geotecnologias no Pantanal, Embrapa Informática Agropecuária/INPE, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, 11-15 November, pp. 126-135.

Serrano E, Millán J. 2014. What is the price of neglecting parasite groups when assessing the cost of co-infection? *Epidemiol Infect* 142:1533–1540.

Silva JSV, Abdon MM. 1998. Delimitação do Pantanal Brasileiro e suas sub-regiões. *Pesqui Agropecu Bras* 33:1703–1711.

Silva MP, Mauro R, Mourão G, Coutinho M. 2000. Distribuição e quantificação de classes de vegetação do Pantanal através de levantamento aéreo. *Rev Bras Botânica* 23:143–152.

Sikes, RS. 2016. Guidelines of the American Society of Mammalogists for the use of wild mammals in research and education. *Journal of Mammalogy* 97:663–688.

Soares CSA, Duarte SC, Sousa SR. 2016. What do we know about feline leishmaniosis? *J Feline Med Surg* 18:435–442.

Solano-Gallego L, Koutinas A, Miró G, Cardoso L, Pennisi MG, Ferrer L, Bourdeau P, Oliva G, Baneth G. 2009. Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis. *Vet Parasitol* 165:1–18.

Solano-Gallego L, Rodríguez-Cortés A, Iniesta L, Quintana J, Pastor J, Espada Y, Portús M, Alberola J. 2007. Cross-sectional serosurvey of feline leishmaniasis in ecoregions around the Northwestern Mediterranean. *Am J Trop Med Hyg* 76:676–680.

Souza NP, Parto B, Almeida F De, Pádua T, Freitas T De. 2010. Leishmania (Leishmania) infantum chagasi em canídeos silvestres mantidos em cativeiro, no Estado de Mato Grosso Leishmania (Leishmania) infantum chagasi in wild canids kept in captivity in the State of Mato. *Rev Soc Bras Med Trop* 43:333–335.

Tolentino N, Pinheiro GRG, Ottino J, de Oliveira AR, Coelho CM, Tinoco HP, Fujiwara RT, Santos RL, Ribeiro VM. 2019. Serological evidence of Leishmania infection by employing ELISA and rapid tests in captive felids and canids in Brazil. Elsevier. *Vet Parasitol Reg Stud* 17.

World Health Organization. 2010. Report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis, In: *WHO Technical Report Series 949*, Geneva, 22–26 March, pp. 1-202.

World Health Organization. 2013. Neglected tropical diseases: Prevention, control, elimination and eradication. In: *Sixty-Sixth World Health Assembly - A66/20*, World Health Organization, Geneva, 20-27 May, pp. 23-26.

World Health Organization. Leishmaniasis: Brazil — Leishmaniasis country profiles, www.who.int/leishmaniasis/burden/Leishmaniasis_Brazil/en/. Accessed February 2020.

Zanette MF, Lima VMF, Laurenti MD, Rossi CN, Vides JP, Vieira RF da C, Biondo AW, Marcondes M. 2014. Serological cross-reactivity of Trypanosoma cruzi, Ehrlichia canis, Toxoplasma gondii, Neospora caninum and Babesia canis to Leishmania infantum chagasi tests in dogs. *Rev Soc Bras Med Trop* 47:105–107.

Zarza H, Arias-Alzate A, González-Maya JF, Chávez C, Ceballos G. 2015. First record of Leishmaniasis in wild Jaguars (Panthera onca) from Mexico. *Mamm Not* 2:11-12.

4. Considerações finais

Nesta pesquisa, descrevemos a primeira investigação sorológica de infecção por *Leishmania* spp. em uma população de jaguatiricas (*Leopardus pardalis*) (n=13) e relatamos a maior soroprevalência (69,2%) já descrita para felinos domésticos e silvestres com 67% dos títulos sendo ≥ 160 , o que indica que estes animais podem estar envolvidos na manutenção do parasito na área de estudo. As amostras sorológicas negativas de cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*) sugerem que a probabilidade de exposição destas espécies a *Leishmania* spp. é distinta, provavelmente relacionada a seus diferentes usos de habitat.

Como direcionamentos futuros, ressaltamos a necessidade de se compreender as dinâmicas de *Leishmania* spp. na área de estudo através da investigação da presença do parasito por outras metodologias sorológicas e moleculares nos diversos carnívoros que transitam pela fazenda e do mapeamento da distribuição dos flebotomíneos vetores. Além disso, o monitoramento a longo prazo dos animais já descritos como positivos neste estudo pode vir a esclarecer o papel das jaguatiricas nos ciclos silvestres de transmissão de *Leishmania* spp. e como o parasito afeta os felinos silvestres de vida livre.